

This Page Is Inserted by IFW Operations
and is not a part of the Official Record

BEST AVAILABLE IMAGES

Defective images within this document are accurate representations of the original documents submitted by the applicant.

Defects in the images may include (but are not limited to):

- BLACK BORDERS
- TEXT CUT OFF AT TOP, BOTTOM OR SIDES
- FADED TEXT
- ILLEGIBLE TEXT
- SKEWED/SLANTED IMAGES
- COLORED PHOTOS
- BLACK OR VERY BLACK AND WHITE DARK PHOTOS
- GRAY SCALE DOCUMENTS

IMAGES ARE BEST AVAILABLE COPY.

**As rescanning documents *will not* correct images,
please do not report the images to the
Image Problem Mailbox.**

THIS PAGE BLANK (USPTO)

PCT

世界知的所有権機関
国際事務局

特許協力条約に基づいて公開された国際出願

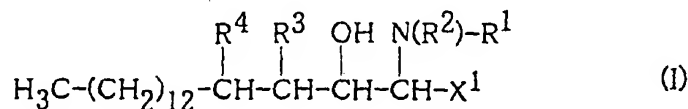


(51) 国際特許分類6 C07C 219/06, 229/06, 235/12, A61K 31/16, 31/22	A1	(11) 国際公開番号 WO99/12890 (43) 国際公開日 1999年3月18日(18.03.99)
(21) 国際出願番号 PCT/JP98/04093 (22) 国際出願日 1998年9月11日(11.09.98) (30) 優先権データ 特願平9/267965 1997年9月11日(11.09.97) JP (71) 出願人 (米国を除くすべての指定国について) 寶酒造株式会社(TAKARA SHUZO CO., LTD.)(JP/JP) 〒612-8061 京都府京都市伏見区竹中町609番地 Kyoto, (JP) (72) 発明者: および (75) 発明者/出願人 (米国についてのみ) 竹迫一任(TAKESAKO, Kazutoh)(JP/JP) 〒520-0822 滋賀県大津市秋葉台4-20-208 Shiga, (JP) 黒目 徹(KUROME, Toru)(JP/JP) 〒525-0025 滋賀県草津市西沢川12丁目12-1 ハーモバレス草津507号 Shiga, (JP) 栗津尚之(AWAZU, Naoyuki)(JP/JP) 〒520-3031 滋賀県栗太郡栗東町綾84番地の1 Shiga, (JP) 加藤郁之進(KATO, Ikunoshin)(JP/JP) 〒611-0028 京都府宇治市南陵町1丁目1-150 Kyoto, (JP)		(74) 代理人 弁理士 安富康男, 外(YASUTOMI, Yasuo et al.) 〒532-0011 大阪府大阪市淀川区西中島5丁目14番22号 リクルート新大阪ビル4階 Osaka, (JP) (81) 指定国 AU, CA, CN, JP, KR, MX, US, VN, ユーラシア 特許 (AM, AZ, BY, KG, KZ, MD, RU, TJ, TM), 欧州特許 (AT, BE, CH, CY, DE, DK, ES, FI, FR, GB, GR, IE, IT, LU, MC, NL, PT, SE). 添付公開書類 国際調査報告書
(54) Title: SPHINGOSINE DERIVATIVES AND MEDICINAL COMPOSITION (54) 発明の名称 スフィンゴシン類誘導体及び医薬組成物 (57) Abstract Sphingosine derivatives capable of regulating the function of sphingolipids. The sphingosine derivatives are represented by general formula (I) wherein R ¹ and R ² are the same or different and each represents hydrogen, C ₁₋₄ alkyl, or C ₂₋₅ acyl; R ³ and R ⁴ are the same or different and each represents hydrogen or hydroxyl, or R ³ and R ⁴ in combination represent a covalent bond; and X ¹ represents -(CH ₂) _n -CO-NH-CH(R ⁵)-R ⁶ or -(CH ₂) _m -O-CO-CH(R ⁷)-R ⁸ . <div style="text-align: center;"> $\begin{array}{ccccccc} & & R^4 & R^3 & OH & N(R^2)-R^1 & \\ & & & & & & \\ H_3C-(CH_2)_{12}-CH-CH-CH-CH-X^1 & & & & & & (I) \end{array}$ </div>		

(57)要約

スフィンゴ脂質の機能を調節することができるスフィンゴシン類誘導体及び医薬組成物を提供する。

すなわち本発明は、下記一般式 (I) で表されるスフィンゴシン類誘導体である。



式中、 R^1 、 R^2 は、同一若しくは異なって、水素、炭素数1～4のアルキル基又は炭素数2～5のアシル基を表す。 R^3 、 R^4 は、同一若しくは異なって、水素若しくはヒドロキシル基を表すか、又は、 R^3 と R^4 とが一緒になって共有結合を表す。 X^1 は、 $-(\text{CH}_2)_n-\text{CO}-\text{NH}-\text{CH}(\text{R}^5)-\text{R}^6$ 又は $-(\text{CH}_2)_m-\text{O}-\text{CO}-\text{CH}(\text{R}^7)-\text{R}^8$ を表す。

PCTに基づいて公開される国際出願のパンフレット第一頁に掲載されたPCT加盟国を同定するために使用されるコード(参考情報)

AL	アルバニア	FI	フィンランド	LK	スリ・ランカ	SI	スロヴェニア
AM	アルメニア	FR	フランス	LR	リベリア	SK	スロヴァキア
AT	オーストリア	GA	ガボン	LS	レソト	SL	シエラ・レオネ
AU	オーストラリア	GB	英国	LT	リトアニア	SN	セネガル
AZ	アゼルバイジャン	GD	グレナダ	LU	ルクセンブルグ	SZ	スワジランド
BA	ボスニア・ヘルツェゴビナ	GE	グルジア	LV	ラトヴィア	TD	チャード
BB	バルバドス	GH	ガーナ	MC	モナコ	TG	トーゴ
BE	ベルギー	GM	ガンビア	MD	モルドヴァ	TJ	タジキスタン
BF	ブルキナ・ファソ	GN	ギニア	MG	マダガスカル	TM	トルクメニスタン
BG	ブルガリア	GW	ギニア・ビサウ	MK	マケドニア旧ユーゴスラヴィア	TR	トルコ
BJ	ベナン	CR	コスタリカ		共和国	TT	トリニダード・トバゴ
BR	ブラジル	HR	クロアチア	ML	マリ	UA	ウクライナ
BY	ベラルーシ	HU	ハンガリー	MN	モンゴル	UG	ウガンダ
CA	カナダ	ID	インドネシア	MR	モーリタニア	US	米国
CF	中央アフリカ	IE	アイルランド	MW	マラウイ	UZ	ウズベキスタン
CG	コンゴ	IL	イスラエル	MX	メキシコ	VN	ヴェトナム
CH	スイス	IN	インド	NE	ニジェール	YU	ユーゴスラビア
CI	コートジボアール	IS	アイスランド	NL	オランダ	ZW	ジンバブエ
CM	カメルーン	IT	イタリア	NO	ノルウェー		
CN	中国	JP	日本	NZ	ニュージーランド		
CU	キューバ	KE	ケニア	PL	ポーランド		
CY	キプロス	KG	キルギスタン	PT	ポルトガル		
CZ	チェコ	KP	北朝鮮	RO	ルーマニア		
DE	ドイツ	KR	韓国	RU	ロシア		
DK	デンマーク	KZ	カザフスタン	SD	スーダン		
EE	エストニア	LC	セントルシア	SE	スウェーデン		
ES	スペイン	LI	リヒテンシュタイン	SG	シンガポール		

WO 99/12890

PCT/JP98/04093

1

明細書

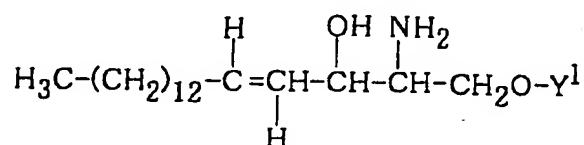
スフィンゴシン類誘導体及び医薬組成物

5 技術分野

本発明は、真菌感染症、アレルギー疾患、免疫異常等の治療剤として有用であるスフィンゴシン類誘導体及び医薬組成物に関する。

背景技術

- 10 スフィンゴシンは、下記一般式で表される化学構造中、 Y^1 が水素である化合物であり、これを構成成分として含有する多くのスフィンゴ脂質が、神経系の細胞膜表面を始めとして生体内に広く存在していることが知られている。また、スフィンゴシンのアミノ基に脂肪酸がペプチド結合したセラミドに、更に、 Y^1 として糖が1種類乃至数種類グリコシド結合したスフィンゴ糖脂質や、 Y^1 として
- 15 りん酸とコリン、エタノールアミン等の塩基とが結合したスフィンゴミエリン等のスフィンゴりん脂質も知られている。



20

- スフィンゴ脂質は、生体内で重要な役割を果たしている脂質の一つであるが、酵素欠損等により代謝系に異常が生じた場合、特定のスフィンゴ脂質が生体内に蓄積し、いわゆるリビドーシスと呼ばれる疾患が起こることも知られている。また、細胞膜に存在するスフィンゴ脂質が有する機作として、細胞増殖調節、相互
- 25 識別等における機能；発生、分化における機能；神経機能；感染や細胞の悪性化等への関与等が注目されているが、これらの機作についての生理的意義は不明な点が多い。近年、スフィンゴシン誘導体の一つであるセラミドが細胞のシグナル伝達機構に重要な役割を演じている可能性が指摘され、アポトーシスや細胞周期に対する作用等が活発に研究されている。

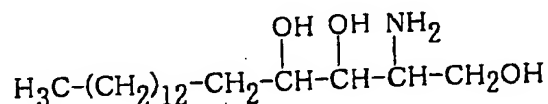
WO 99/12890

PCT/JP98/04093

2

スフィンゴ脂質は、真菌や植物にも存在しており、これらに含有されるスフィンゴシンは、下記式で表される化学構造を有するものが主である。これらの脂質は、真菌や植物の細胞増殖において重要な機能を果たしていることが知られているが、詳細な役割はいまだ明らかにされていない。

5



最近では、スフィンゴ脂質の誘導体やその関連化合物が代謝系を阻害又は促進
 10 することによって各種の生理活性を発揮することが知られるようになった。これ
 らのなかには、プロテインキナーゼC阻害物質、アポトーシス誘発物質、免疫抑
 制物質、抗真菌性物質等がある。このような生理活性を発揮するような物質は、
 各種の疾患に対して有効な化合物として期待されている。

15 発明の要約

本発明は、上記の現状に鑑み、スフィンゴ脂質の機能を調節することができる
 スフィンゴ類の誘導体及び医薬組成物を提供することを目的とするものである。

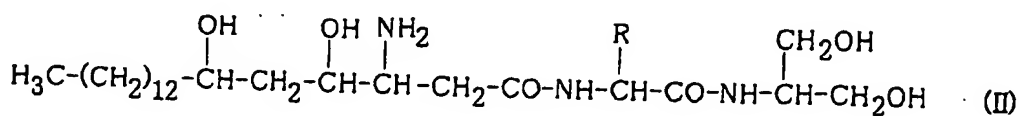
本発明者らは、新規な生理活性物質の探索により、ペニシリウム・エスピー
 (Penicillium sp.) TKR1785株の培養物中に抗真菌活性、
 20 免疫抑制活性を示す新規な生理活性物質TKR1785類が存在していることを
 見いだした。

本明細書中、TKR1785類とは、下記一般式(II)で表される化合物で
 ある。上記TKR1785類としては、例えば、下記式(IIa)で表されるT
 KR1785-I、又は、下記式(IIb)で表されるTKR1785-IIが
 25 挙げられる。

WO 99/12890

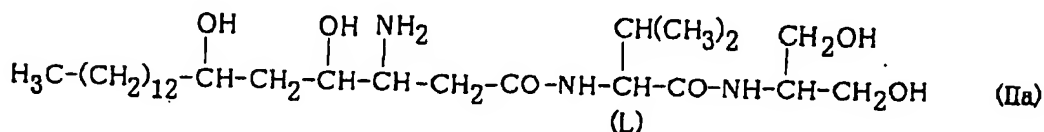
PCT/JP98/04093

3

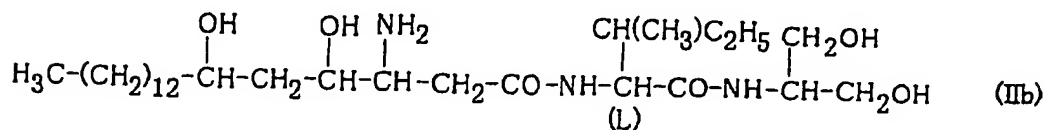


(式中、Rは $\text{CH}(\text{CH}_3)_2$ 又は $\text{CH}(\text{CH}_3)\text{C}_2\text{H}_5$ である)

5

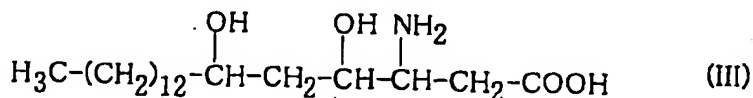


10



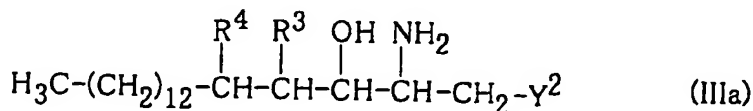
本発明者らは、上記TKR 1785類を加水分解することにより、下記式(I I I)で表される新規なスフィンゴシン類縁化合物を調製することに成功した。

15



更に、上記式(I I I)で表される化合物及び上記式(I I I)で表される化合物を原料にして得られる誘導体である下記一般式(I I I a)で表される化合物を原料として、下記一般式(I a)で表されるペプチド誘導体を合成することに成功し、それらが抗真菌活性、免疫抑制作用等の生理活性を有していることを明らかにした。

25

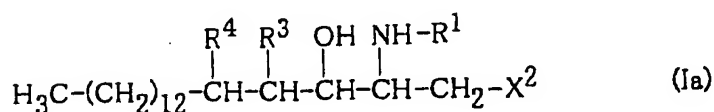


式中、 R^3 、 R^4 は、同一若しくは異なって、ヒドロキシル基又は水素を表すか、又は、 R^3 と R^4 とが一緒になって共有結合を表す。 Y^2 は、 $-\text{COOH}$ 又は $-\text{CH}_2\text{OH}$ を表す。

WO 99/12890

PCT/JP98/04093

4



式中、 R^1 は、水素、炭素数1～4のアルキル基又は炭素数2～5のアシル基
 5 を表す。 R^3 、 R^4 は、同一若しくは異なって、水素若しくはヒドロキシル基を
 表すか、又は、 R^3 と R^4 とが一緒になって共有結合を表す。 X^2 は、 $-\text{CO}-$
 $\text{NH}-\text{CH}(\text{R}^5)-\text{R}^6$ 又は $-\text{CH}_2-\text{O}-\text{CO}-\text{CH}(\text{R}^7)-\text{R}^8$ を表す。
 R^5 は、水素、ヒドロキシル基又はヒドロキシル基を有していてもよい炭素数1
 ～4のアルキル基を表す。 R^6 は、 $-\text{CH}_2\text{OH}$ 、 $-\text{COOH}$ 、 $-\text{CONH}_2$ 又
 10 は $-\text{CO}-\text{NH}-\text{CH}(\text{R}^9)-\text{R}^{10}$ を表す。 R^9 は、水素、ヒドロキシル基又
 はヒドロキシル基を有していてもよい炭素数1～4のアルキル基を表す。 R^{10}
 は、 $-\text{CH}_2\text{OH}$ 、 $-\text{COOH}$ 、 $-\text{CONH}_2$ 又は $-\text{CO}-\text{NH}-\text{CH}(\text{R}^{11})$
 $-\text{R}^{12}$ を表す。 R^{11} は、水素、ヒドロキシル基又はヒドロキシル基を有してい
 てもよい炭素数1～4のアルキル基を表す。 R^{12} は、 $-\text{CH}_2\text{OH}$ 、 $-\text{COO}$
 15 H 又は $-\text{CONH}_2$ を表す。 R^7 は、水素、ヒドロキシル基又はヒドロキシル基
 を有していてもよい炭素数1～4のアルキル基を表す。 R^8 は、 $-\text{CH}_2\text{OH}$ 、
 $-\text{NH}_2$ 又は $-\text{NH}-\text{CO}-\text{CH}(\text{R}^{13})-\text{R}^{14}$ を表す。 R^{13} は、水素、ヒド
 ロキシル基又はヒドロキシル基を有していてもよい炭素数1～4のアルキル基を
 表す。 R^{14} は、 $-\text{CH}_2\text{OH}$ 、 $-\text{NH}_2$ 又は $-\text{NH}-\text{CO}-\text{CH}(\text{R}^{15})$
 20 R^{16} を表す。 R^{15} は、水素、ヒドロキシル基又はヒドロキシル基を有していてもよ
 い炭素数1～4のアルキル基を表す。 R^{16} は、 $-\text{NH}_2$ 又は $-\text{CH}_2\text{OH}$ を表す。

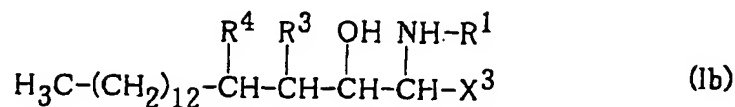
但し、 R^1 、 R^3 が同時に水素であり、 R^4 がヒドロキシル基であり、 X^2 が
 $-\text{CH}_2-\text{CO}-\text{NH}-\text{CH}(\text{R}^5)-\text{R}^6$ であり、 R^5 が $-\text{CH}(\text{CH}_3)_2$ 又は
 $-\text{CH}(\text{CH}_3)\text{C}_2\text{H}_5$ であり、 R^6 が $-\text{CO}-\text{NH}-\text{CH}(\text{R}^9)-\text{R}^{10}$ であ
 25 り、 R^9 、 R^{10} が同時に CH_2OH である場合を除く。

また、本発明者らは、上記式(I I I)と化学構造上類似した上記のスフィン
 ゴシン、フィトスフィンゴシン等の各種スフィンゴシン類より下記一般式(I
 b)で表されるペプチド誘導体の調製に成功し、これらが上記一般式(I a)の
 化合物と同様の生理活性を有することを明らかにし、本発明を完成するに至った。

WO 99/12890

PCT/JP98/04093

5



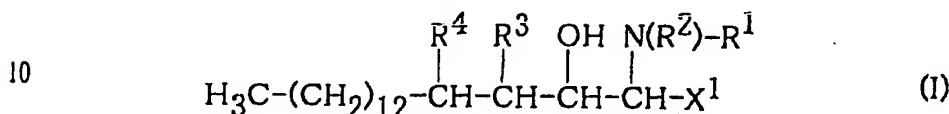
式中、 R^1 、 R^3 、 R^4 は、上記に同じ。 X^3 は、上記式 (I a) の X^2 と同じ。

5

発明の詳細な開示

以下に本発明を詳述する。

本発明のスフィンゴシン類誘導体は、下記一般式 (I) で表される。



10

式中、 R^1 、 R^2 は、同一若しくは異なって、水素、炭素数1～4のアルキル基又は炭素数2～5のアシル基を表す。 R^3 、 R^4 は、同一若しくは異なって、水素若しくはヒドロキシル基を表すか、又は、 R^3 と R^4 とが一緒になって共有結合を表す。 X^1 は、 $-(\text{CH}_2)_n-\text{CO}-\text{NH}-\text{CH}(\text{R}^5)-\text{R}^6$ 又は $-(\text{CH}_2)_m-\text{O}-\text{CO}-\text{CH}(\text{R}^7)-\text{R}^8$ を表す。 n は、0～3の整数を表す。 R^5 は、水素、ヒドロキシル基又はヒドロキシル基を有していてもよい炭素数1～4のアルキル基を表す。 R^6 は、 $-\text{CH}_2\text{OH}$ 、 $-\text{COOH}$ 、 $-\text{CONH}_2$ 又は $-\text{CO}-\text{NH}-\text{CH}(\text{R}^9)-\text{R}^{10}$ を表す。 R^9 は、水素、ヒドロキシル基又はヒドロキシル基を有していてもよい炭素数1～4のアルキル基を表す。 R^{10} は、 $-\text{CH}_2\text{OH}$ 、 $-\text{COOH}$ 、 $-\text{CONH}_2$ 又は $-\text{CO}-\text{NH}-\text{CH}(\text{R}^{11})-\text{R}^{12}$ を表す。 R^{11} は、水素、ヒドロキシル基又はヒドロキシル基を有していてもよい炭素数1～4のアルキル基を表す。 R^{12} は、 $-\text{CH}_2\text{OH}$ 、 $-\text{COOH}$ 又は $-\text{CONH}_2$ を表す。 m は、1～3の整数を表す。 R^7 は、水素、ヒドロキシル基又はヒドロキシル基を有していてもよい炭素数1～4のアルキル基を表す。 R^8 は、 $-\text{CH}_2\text{OH}$ 、 $-\text{NH}_2$ 又は $-\text{NH}-\text{CO}-\text{CH}(\text{R}^{13})-\text{R}^{14}$ を表す。 R^{13} は、水素、ヒドロキシル基又はヒドロキシル基を有していてもよい炭素数1～4のアルキル基を表す。 R^{14} は、 $-\text{CH}_2\text{OH}$ 、 $-\text{NH}_2$ 又は $-\text{NH}-\text{CO}-\text{CH}(\text{R}^{15})-\text{R}^{16}$ を表す。 R^{15} は、水素、ヒドロキシル基又はヒド

25

WO 99/12890

PCT/JP98/04093

6

ロキシル基を有していてもよい炭素数 1～4 のアルキル基を表す。R¹⁶は、
NH₂又は-CH₂OHを表す。

但し、R¹、R²、R³が同時に水素であり、R⁴がヒドロキシル基であり、X¹が-CH₂-CO-NH-CH(R⁵)-R⁶であり、R⁵が-CH(CH₃)₂
5 又は-CH(CH₃)C₂H₅であり、R⁶が-CO-NH-CH(R⁹)-R¹⁰
であり、R⁹、R¹⁰が同時にCH₂OHである場合を除く。

上記炭素数 1～4 のアルキル基としては特に限定されず、例えば、メチル基、
エチル基、プロピル基、i-プロピル基、n-ブチル基、t-ブチル基等を挙げ
ることができる。

10 上記炭素数 2～5 のアシル基としては特に限定されず、例えば、アセチル基、
プロピオニル基、ブチリル基、バレリル基等を挙げることができる。

本発明のスフィンゴシン類誘導体としては、上記一般式 (I a) 及び上記一般
式 (I b) の化合物を含む上記一般式 (I) で表すことができる化合物であれば
よく、例えば、後に示す表 1 に記載した化合物等を挙げることができる。

15 上記一般式 (I I) で表される TKR 1785 類、すなわち、TKR 1785
-I 及び TKR 1785-II は、ペニシリウム (Penicillium) 属
に属し、TKR 1785 類を産生する菌株を培養し、その後、その培養物から単
離することにより製造することができる。上記 TKR 1785 類の生産に用いら
れる菌株としては、例えば、ペニシリウム・エスピー (Penicillium
20 s p.) TKR 1785 株 (以下、単に「TKR 1785 株」という) 等を挙げ
ることができる。即ち、上記 TKR 1785 株を栄養源含有培地に接種し、液体
培養することにより、上記 TKR 1785 類を得ることができる。

本発明者らは、上記 TKR 1785 株を、通商産業省工業技術院生命工学工業
技術研究所 [あて名；日本国茨城県つくば市東 1 丁目 1 番 3 号 (郵便番号 30
25 5)] に、寄託番号 FERM BP-5788 (原寄託日；平成 7 年 5 月 17 日、
国際寄託への移管請求日；平成 9 年 1 月 17 日) として寄託した。

上記培養は、15～25℃で行うことが好ましく、通常 3～11 日間培養すれ
ば充分な産生量を得ることができる。培養物中に蓄積された TKR 1785 類は、
その理化学的性質及び生物学的性質を利用して精製し、取得することができる。

WO 99/12890

PCT/JP98/04093

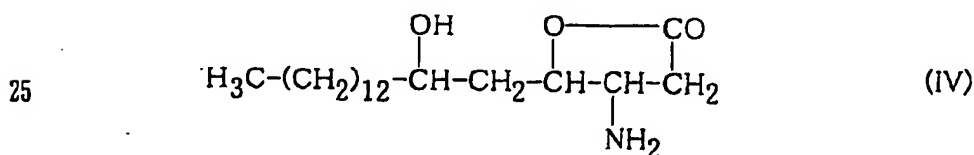
7

上記精製において高速液体クロマトグラフィー法を採用する場合には、担体として、例えば、オクタデシル基、オクチル基、フェニル基等が結合した化学結合型シリカゲル；ポリスチレン系ポーラスポリマーゲル等を使用することができ、移動相としては、例えば、含水メタノール、含水アセトニトリル等の水溶性有機溶媒の含水溶液等を使用することができる。

本発明の上記一般式 (I) で表される化合物のうち、上記式 (III) で表される化合物は、上記一般式 (II) で表される TKR 1785 類を加水分解することにより製造することができる。例えば、上記式 (IIa) で表される TKR 1785-I を酸加水分解、例えば、ペプチド結合の加水分解に使用される 6N 塩酸中、110℃、一晚処理等の条件で分解後、いったん反応液を中和し、更にアルカリにすることにより得ることができる。ここで得られた化合物を単離する場合には、再度反応液を中和した後、クロロホルムやクロロホルム/メタノールの混合溶媒等の有機溶媒で抽出し、更に必要に応じて、シリカゲルによる吸着クロマトグラフィーや化学結合型シリカゲルによる逆相分配クロマトグラフィーにより精製すればよい。

上記式 (III) で表される化合物のカルボキシル基は、メチル化後、アンモノリシスによりアミドへ変換したり、水素化リチウムアルミニウム (LiAlH_4)、水素化ホウ素ナトリウム (NaBH_4) 等によって還元することによりヒドロキシル基に変換することができ、上記一般式 (IIIa) で表される化合物において、 Y^2 が $-\text{CH}_2\text{OH}$ である化合物を調製することができる。

また、TKR 1785-I を上記と同様の条件で酸加水分解した後、そのまま濃縮、精製すると、下記式 (IV) で表されるラクトン体を得ることができる。



更に、上記一般式 (IIIa) で表される化合物において、 R^3 と R^4 とが一緒になって共有結合し、炭素番号 4 と炭素番号 5 の間が二重結合となった化合物

WO 99/12890

PCT/JP98/04093

8

は、上記一般式 (I V) のラクトン体を濃硫酸による処理やピリジン中塩化チオニルとの反応により脱水後、アルカリ加水分解すれば容易に得ることができる。

また、これをアルカリ加水分解することによって、上記一般式 (I I I a) で表される化合物において、 R^3 と R^4 が一緒になって共有結合であり、 Y^2 がC
5 OOHである化合物を調製することができる。

本発明の上記一般式 (I) で表される化合物の調製に利用可能なスフィンゴシン類としては、上記一般式 (I I I a) で表される化合物の他に、市販のフィトスフィンゴシン、スフィンゴシン、それらの誘導体の二重結合に水素を付加した化合物 (スフィンガニン)、それらの誘導体の二重結合に水を付加して得られる
10 化合物、更に、これらの化合物の末端のヒドロキシル基をカルボキシル基に変換した化合物等が挙げられる。

上記一般式 (I) で表される化合物の調製においては、ペプチド合成において広く利用されている各種の保護基を適宜利用することができる。このような保護基としては、例えば、アミノ基保護基、カルボキシル基保護基、ヒドロキシル基
15 保護基等を用いることができる。

上記アミノ基保護基としては特に限定されず、例えば、*t*-ブトキシカルボニル (Boc) 基、トリクロロエトキシカルボニル (Troc) 基等を挙げることができる。

上記カルボキシル基保護基としては特に限定されず、例えば、フェナシル (Pac) 基、ベンジル (Bzl) 基等を挙げることができる。
20

上記ヒドロキシル基保護基としては特に限定されず、例えば、Bzl基、アセチル基、メチル基、トリメチルシリル基等を挙げることができる。

上記保護基は、必要に応じて、各々対応する公知の脱離反応又はこの反応を応用した脱離反応により脱離され、目的物に変換される。上記保護基として、異なる条件下で脱離可能なものを使用した場合には、上記脱離反応を行うことによっ
25 て、選択的修飾を容易に行うことができる。

例えば、末端がカルボキシル基のスフィンゴシン類を用いて上記一般式 (I) で表される化合物の誘導体を調製するためには、スフィンゴシン類のカルボキシル基と、アミノ酸又はアミノアルコールのアミノ基とをペプチド結合で連結させ

る。上記ペプチド結合を形成させる方法としては、例えば、水溶性カルボジイミド（WSCD）とHOBtによりカルボキシル基を活性化する方法、ジフェニルホスホリルアジドによりカルボキシアジドとし、カルボキシル基を活性化する方法、（ベンゾトリアゾリルオキシ）トリス（ジメチルアミノ）ホスホニウムフルオロリン化物塩（BOP）を用いる方法等が挙げられる。

また、末端がヒドロキシル基のスフィンゴシン類を用いて上記一般式（I）で表される化合物の誘導体を調製するためには、スフィンゴシン類のヒドロキシル基と、アミノ酸又は有機酸のカルボキシル基とをエステル結合で連結させる。上記エステル結合を形成させる方法としては、例えば、N，N'-ジシクロヘキシルカルボジイミド（DCC）をジメチルアミノピリジン（DMAP）や4-ピロリジノピリジン等の触媒と共に用いる方法、2，4，6-トリクロロベンゾイルクロリドを用いる混合酸無水物法等が挙げられる。

本発明の上記一般式（1）で表される化合物を合成するための原料としては、スフィンゴシン、フィトスフィンゴシン等の各種スフィンゴシン類が用いられるが、上記一般式（1）で表される化合物には、アミノ基のアシル化物、アルキル化物が含まれるため、スフィンゴシン類のアシル化物、アルキル化物を用いてもよい。

上記アシル化は、酸無水物、酸クロリド等を用いた常法により行うことができ、上記アルキル化は、水素化ナトリウム、ヨウ化アルキル等を用いた方法により行うことができる。

本発明のスフィンゴシン類誘導体は、例えば、後に示す表2に記載した生物活性を有しているため、医薬組成物として有用である。

本発明のスフィンゴシン類誘導体は、そのまま、又は、その薬理学的に許容される塩として医薬に使用することができる。上記塩としては薬理学的に許容されるものであれば特に限定されず、例えば、塩酸、硫酸、硝酸、りん酸、ふっ化水素酸、臭化水素酸等の鉱酸の塩；ぎ酸、酢酸、酒石酸、乳酸、クエン酸、フマル酸、マレイン酸、こはく酸、メタンスルホン酸、エタンスルホン酸、ベンゼンスルホン酸、トルエンスルホン酸、ナフタレンスルホン酸、カンファースルホン酸等の有機酸の塩；ナトリウム、カリウム、カルシウム等のアルカリ金属又はア

WO 99/12890

PCT/JP98/04093

10

ルカリ土類金属等の塩等を挙げることができる。

本発明のスフィンゴシン類誘導体、又は、その薬理学的に許容される塩を医薬として投与する場合、本発明のスフィンゴシン類誘導体、又は、その薬理学的に許容される塩は、そのまま、又は、医薬的に許容される無毒かつ不活性の担体中
5 に、例えば、0.1～99.5%、好ましくは0.5～90%含有する医薬組成物として、ヒトを含む動物に投与される。

上記担体としては、例えば、固形、半固形若しくは液状の希釈剤、充填剤又はその他の処方用の助剤等を挙げることができ、これらは、1種以上を用いることができる。

10 上記医薬組成物は、投与単位形態で投与することが好ましく、経口投与、組織内投与、局所投与（経皮投与等）又は経直腸的に投与することができる。上記医薬組成物は、これらの投与方法に適した剤型で投与されることは当然である。

本発明のスフィンゴシン類誘導体、又は、その薬理学的に許容される塩を医薬として投与する場合、抗真菌剤又は抗アレルギー剤としての用量は、年齢、体重
15 等の患者の状態、投与経路、病気の性質と程度等を考慮した上で調整することが望ましいが、通常は、ヒトについては、成人に対して本発明の有効成分量として、一日当たり、10～2000mgの範囲である。上記範囲未満の用量で足りる場合もあるが、逆に上記範囲を超える用量を必要とする場合もある。多量に投与するときは、一日数回に分割して投与することが望ましい。

20 上記経口投与は、固形、粉末又は液状の用量単位で行うことができ、例えば、末剤、散剤、錠剤、糖衣剤、カプセル剤、ドロップ剤、舌下剤、その他の剤型等により行うことができる。

上記非経口投与は、例えば、溶液や懸濁剤等の皮下、筋肉内又は静脈内注射用の液状用量単位形態を用いることによって行うことができる。これらのものは、
25 本発明のスフィンゴシン類誘導体、又は、その薬理学的に許容される塩の一定量を、例えば、水性や油性の媒体等の注射の目的に適合する非毒性の液状担体に懸濁又は溶解し、次いで該懸濁液又は溶液を滅菌することにより製造される。

上記局所投与（経皮投与等）は、例えば、液、クリーム、粉末、ペースト、ゲル、軟膏剤等の外用製剤の形態を用いることによって行うことができる。これら

WO 99/12890

PCT/JP98/04093

11

のものは、本発明のスフィンゴシン類誘導体、又は、その薬理学的に許容される塩の一定量を、外用製剤の目的に適合する香料、着色料、充填剤、界面活性剤、保湿剤、皮膚軟化剤、ゲル化剤、担体、保存剤、安定剤等のうちの一種以上と組み合わせることにより製造される。

- 5 直腸投与は、本発明のスフィンゴシン類誘導体、又は、その薬理学的に許容される塩の一定量を、例えば、パルミチン酸ミリスチルエステル等の高級エステル類、ポリエチレングリコール、カカオ脂、これらの混合物等の低融点の固体に混入した座剤等を用いて行うことができる。

10 発明を実施するための最良の形態

以下に実施例を掲げて本発明を更に詳しく説明するが、本発明はこれら実施例のみに限定されるものではない。

実施例1 スフィンゴシンから化合物(1)の合成(スキーム1参照)

- 15 1) N-Boc化: スフィンゴシン(10.0mg、33.4 μ mol)をジオキサン-水(10:1、300 μ l)に溶解し、室温でBoc-ON(12.7mg、50.2 μ mol)及びN,N-ジイソプロピルエチルアミン(DIEA)(8.8 μ l、50.2 μ mol)を加えて5時間攪拌した。反応液に酢酸エチルを加えて、10%クエン酸水溶液、飽和食塩水で順次洗浄した。酢酸エチル層を硫酸マグネシウムで乾燥後、減圧濃縮した。これをシリカゲル薄層クロマトグラフィー(TLC)(クロロホルム-メタノール19:1)で精製して化合物(2a)の無色粉末を得た(7.7mg)。
- 20

FAB-MS: m/z 400 (M+H)

- $^1\text{H-NMR}$ (500MHz、DMSO- d_6) δ 6.18 (d)、5.51 (m)、5.40 (m)、4.76 (d)、4.39 (t)、3.83 (m)、3.49-3.38 (m)、1.93 (m)、1.36-1.20 (m)、0.84 (t)、0.00 (s)。
- 25

2) 1級アルコールのTBDMS化: 化合物(1a)(5.7mg、14.3 μ mol)を塩化メチレン(CH_2Cl_2)(400 μ l)に溶解し、ジメチル

WO 99/12890

PCT/JP98/04093

12

アミノピリジン (DMAP) (1 mg)、トリエチルアミン (NEt_3) (2.4 μl , 17.1 μmol) 及び塩化 *t*-ブチルジメチルシリルクロライド (TBDMSCl) (2.4 mg, 15.7 μmol) を加えて室温で16時間攪拌した。反応液をTLC (クロロホルム-メタノール100:1) で精製して化合物 (2b) の無色油状物を得た (6.7 mg)。

FAB-MS: m/z 514 ($M+H$)

$^1\text{H-NMR}$ (500 MHz, $\text{DMSO}-d_6$) δ 6.18 (d), 5.50 (m), 5.41 (m), 4.74 (d), 3.82 (m), 3.67 (m), 3.52-3.39 (m), 1.94 (m), 1.35-1.19 (m), 0.84 (m), 0.00 (s)。

3) 2級アルコールのBoc化: 化合物 (1b) (2.0 mg, 3.89 μmol) を CH_2Cl_2 (400 μl) に溶解し、DMAP (1 mg) 及び Boc_2O (1.0 mg, 4.67 μmol) を加えて室温で5.5時間攪拌した。さらに Boc_2O (2.0 mg, 9.34 μmol) を加えて17.5時間攪拌した。反応液をTLC (クロロホルム-メタノール 200:1) で精製して化合物 (1c) の無色油状物を得た (2.4 mg)。

FAB-MS: m/z 614 ($M+H$)

$^1\text{H-NMR}$ (500 MHz, $\text{DMSO}-d_6$) δ 6.65 (d), 5.65 (m), 5.41 (m), 4.92 (t), 3.73 (m), 3.52 (m), 1.97 (m), 1.41-1.22 (m), 0.84 (m)。

4) TBDMSの選択的脱離: 化合物 (1c) (2.4 mg, 3.91 μmol) にテトラヒドロフラン (THF) - 酢酸 - 水 (1:2:1, 1.5 ml) を加えて室温で17.5時間攪拌した。減圧濃縮後、TLC (クロロホルム-メタノール50:1) で精製して化合物 (1d) の無色油状物を得た (2.0 mg)。

FAB-MS: m/z 500 ($M+H$)

$^1\text{H-NMR}$ (500 MHz, $\text{DMSO}-d_6$) δ 6.58 (d), 5.64 (m), 5.39 (m), 4.91 (t), 4.62 (t), 3.66 (m), 3.44 (m), 1.96 (m), 1.40-1.22 (m), 0.84 (t)。

5) スフィンゴシンとバリンとの縮合: 化合物 (1d) (3.7 mg, 7.4

WO 99/12890

PCT/JP98/04093

13

0 μmol), Z-Val-OH (2.8 mg, 11.1 μmol , Z:ベンジ
ルオキシカルボニル基)、DMAP (0.45 mg, 3.70 μmol) をCH
 $_2\text{Cl}_2$ (300 μl) に溶解し、氷冷下、DCC (2.3 mg, 11.1 μmol)
o 1) を加えて10分間、さらに室温で16時間攪拌した。濾過後、減圧濃縮し、
5 TLC (クロロホルム-メタノール100:1) で精製し、化合物(1e)の無
色油状物を得た(4.0 mg)。

FAB-MS: m/z 733 (M+H)

$^1\text{H-NMR}$ (500 MHz, DMSO- d_6) δ 7.66 (d), 7.36
-7.28 (m), 6.97 (d), 5.67 (m), 5.55 (d), 5.3
10 9 (m), 5.03 (d), 4.88 (t), 3.93 (m), 1.96 (m),
1.71 (m), 1.60 (m), 1.50 (m), 1.38-1.00 (m),
0.84 (m)。

6) 化合物(1f)の合成: 化合物(1e) (4.0 mg, 5.46 μmol)
1) の酢酸エチル(20 ml)溶液にパラジウム-黒(20 mg)を加えて室温
15 で水素ガスを90分間吹き込んだ。触媒を濾去した後、減圧濃縮し、Z基を脱離
すると共に、二重結合を還元し、化合物(1f)を得た(3.8 mg)。

FAB-MS: m/z 890 (M+H)

$^1\text{H-NMR}$ (500 MHz, DMSO- d_6) δ 8.40 (d), 6.99
(d), 5.07 (m), 4.61 (m), 4.33-3.85 (m), 2.0
20 7 (m), 1.54-1.22 (m), 0.84 (m)。

7) O-Bocグリセリン酸の合成: グリセリン酸(92.4 mg, 0.87
1 mmol)のアセトン(300 μl)溶液に、氷冷下、NEt₃ (14.6 μ
l, 1.05 mmol)、臭化フェナシル(PacBr) (203 mg, 1.0
5 mmol)を加えて1時間、さらに室温で4時間攪拌した。減圧濃縮後、残渣
25 を酢酸エチルに溶解し、水、飽和炭酸水素ナトリウム水溶液、飽和食塩水で順次
洗浄した。酢酸エチル層を硫酸マグネシウムで乾燥、減圧濃縮し乾固した。残渣
を酢酸エチル(2 ml)に溶解し、氷冷下DMAP (36.4 mg, 0.298
mmol)及びBoc₂O (260.3 mg, 1.193 mmol)を加え、5
分間、さらに室温で4時間攪拌した。反応液に酢酸エチルを加え、10%クエン

WO 99/12890

PCT/JP98/04093

14

酸水溶液、飽和食塩水、飽和炭酸水素ナトリウム水溶液、飽和食塩水で順次洗浄した。酢酸エチル層を硫酸マグネシウムで乾燥後、減圧濃縮した。これをTLC (ベンゼン-酢酸エチル 30:1) で精製してO-Bocグリセリン酸のPa
cエステル体を得た(47.6mg)。この化合物(42.8mg, 0.101
5 mmol)を90%酢酸水溶液(5ml)に溶解し、氷冷下、亜鉛末(330.
2mg, 5.05mmol)を加えて15分間、さらに室温で1時間攪拌した。
不溶物を濾去し、減圧濃縮後、残渣を酢酸エチルに溶解し、10%クエン酸水溶
液、飽和食塩水で順次洗浄した。酢酸エチル層を硫酸マグネシウムで乾燥後、減
圧濃縮した。これをTLC (クロロホルム-メタノール-酢酸95:5:3)で
10 精製してO-Bocグリセリン酸の無色粉末を得た(19.7mg)。

FAB-MS: m/z 305 (M-H)

¹H-NMR (500MHz, DMSO-d₆) δ 5.05 (m), 4.34
(m), 1.41 (d)。

8) 化合物(1f)とグリセリン酸との縮合: 化合物(1f) (3.1mg,
15 5.18μmol)及びO-Bocグリセリン酸(2.4mg, 7.76μmol)
1)をジメチルホルムアミド(DMF) (500μl)に溶解し、氷冷下、HO
Bt (0.84mg, 6.21μmol)及びWSCD (1.0μl, 5.69
μmol)を加えた後、3時間攪拌した。反応液に酢酸エチルを加え、10%ク
エン酸水溶液、飽和食塩水、飽和炭酸水素ナトリウム水溶液、飽和食塩水で順次
20 洗浄した。硫酸マグネシウムで乾燥後、減圧濃縮し、残渣をTLC (クロロホル
ム-メタノール200:1)で精製し、化合物(1)の保護体を得た。得られた
化合物にTFA (500μl)を加え、室温で2時間攪拌後、減圧濃縮し、表1
に示した化合物(1)の無色油状物を得た(0.5mg)。

FAB-MS: m/z 489 (M+H)

25

実施例2 化合物(2)の合成

化合物(1d) (9.3mg, 18.6μmol)、Fmoc-Val-OH
(9.5mg, 27.9μmol, 9-フルオレニルメトキシカルボニル基)、
DMAP (1.1mg, 9.31μmol)をCH₂Cl₂ (500μl)に溶

WO 99/12890

PCT/JP98/04093

15

解し、氷冷下、DCC (5.8 mg, 27.9 μmol) を加えて45分間、さらに室温で19時間攪拌した。濾過後、減圧濃縮し、TLC (クロロホルム-メタノール200:1) で精製した (10.7 mg)。得られた化合物 (8.6 mg, 10.5 μmol) に氷冷下、30%ピペリジン/DMF溶液 (1 ml) を
5 加えて30分間、さらに室温で1時間攪拌し、Fmoc保護基を選択的に脱離した。反応液を氷冷下、1N-HClで中和した後、減圧濃縮し、TLC (クロロホルム-メタノール19:1) で精製してスフィンゴシン保護体 (1d) とバリニン (Fmoc-Val-OH) との縮合物を得た (4.5 mg)。

FAB-MS: m/z 599 (M+H)

10 得られた化合物 (5.4 mg, 9.02 μmol) 及びO-Bocグリセリン酸 (4.1 mg, 13.5 μmol) をDMF (500 μl) に溶解し、氷冷下、HOBt (1.5 mg, 10.8 μmol) 及びWSCD (1.8 μl , 9.92 μmol) を加えた後、3時間攪拌した。反応液に酢酸エチルを加え、10%クエン酸水溶液、飽和食塩水、飽和炭酸水素ナトリウム水溶液、飽和食塩水で順
15 次洗浄した。硫酸マグネシウムで乾燥後、減圧濃縮し、残渣をTLC (クロロホルム-メタノール100:1) で精製し、化合物 (2) の保護体を得た (収量4.3 mg)。得られた化合物にTFA (500 μl) を加え、室温で2時間攪拌後、減圧濃縮し、表1に示した化合物 (2) の無色油状物を得た (収量1.8 mg)。

FAB-MS: m/z 487 (M+H)

20

実施例3 化合物 (3) の合成

実施例1におけるスフィンゴシンの代わりにフィトスフィンゴシンを出発原料として用い、実施例1の化合物 (1) の合成と同様の操作によって、表1に示した化合物 (3) を無色油状物として得た (収量1.5 mg)。

25 FAB-MS: m/z 505 (M+H)

参考例1 TKR1785-Iの合成

1) 化合物 (III) のイソプロピリデン化: 化合物 (III) (5.0 mg, 14.5 μmol) をアセトン (900 μl) に懸濁し、アセトンジメチルアセ

WO 99/12890

PCT/JP98/04093

16

タール (150 μ l)、及び d l - ショウノウスルホン酸 (1 mg) を加え、室温で 1 時間攪拌した。反応液を NEt₃ (10 μ l) で中和した後、減圧濃縮した。残渣を TLC (クロロホルム-メタノール-水 8 : 3 : 1 の下層) で精製して、無色油状物を得た (収量 2.8 mg、収率 51%)。

5 FAB-MS : m/z 386 (M+H)

2) トリクロロエトキシカルボニル (Troc) 化 : 1) で得られた化合物 (1.4 mg、3.6 μ mol) をピリジン (100 μ l) に溶解し、氷冷下、塩化トリクロロエトキシカルボニル (1.5 μ l、10.9 μ mol) を加え、氷冷下、30 分間攪拌した後、室温で 1 時間攪拌した。反応液を TLC (クロロホルム-メタノール-水 8 : 3 : 1 の下層) で精製して、無色粉末を得た (収量 1.0 mg、収率 42%)。

10 FAB-MS : m/z 734 (M-H)

3) TKR1785-I の合成 : 上記 2) で得られた Troc 化化合物 (5.0 mg、6.0 μ mol) 及び Boc-NH-CH(CH₂OH)CH₂OBz 1 を出発原料として別途調製した HCl · H₂N-CH(CH(CH₃)₂)-CONH-CH(CH₂OBz 1)-CH₂OBz 1 (4.8 mg、12.0 μ mol) を CH₂Cl₂ (100 μ l) に溶解し、氷冷下、実施例 1-8) と同様に WSCD 及び HOBt を適量加え、氷冷下 30 分間さらに室温で終夜攪拌した。反応液を TLC (クロロホルム-メタノール 19 : 1) で精製して、無色粉末を得た (収量 3.9 mg、収率 60%)。

20 FAB-MS : m/z 1088 (M+H)

この化合物 (3.9 mg、3.6 μ mol) をメタノール (3 ml) に溶解し、パラジウム-黒 (15 mg) を加えた後、水素ガスを吹き込みながら、室温で 3 時間攪拌した。反応液より触媒をろ去し、ろ液を減圧濃縮して無色粉末を得た。

25 FAB-MS : m/z 908 (M+H)

さらに、得られた化合物を 90% 酢酸水溶液 (2 ml) に溶解し、氷冷下、亜鉛末 (100 mg) を加え、氷冷下、10 分間攪拌した後、室温で 2 時間攪拌した。不溶物をろ去した後、ろ液を減圧濃縮して、TKR1785-I を無色粉末として得た (収量 1.1 mg)。

WO 99/12890

PCT/JP98/04093

17

FAB-MS : m/z 518 (M+H)

実施例4 化合物(4)の合成

1) 化合物(1d)の酸化: ニクロム酸ピリジニウム(12.8mg, 34 μ mol)のDMF懸濁液(50 μ l)を化合物(1d)(4.8mg, 9.6 μ mol)のDMF溶液(50 μ l)に加え、室温で24時間攪拌した。反応液に水を加えて10分間攪拌した後、クロロホルムで抽出し、抽出液を減圧濃縮した。残渣をTLCで精製し、無色固体を得た(収量2.5mg、収率51%)。

FAB-MS : m/z 514 [M+H]

10 2) 化合物(4)の合成

上記1)で得られた化合物(2.0mg, 3.9 μ mol)と、Boc-NH-CH(CH₂OH)CH₂OHを出発原料として、別途調製したHCl·H₂N-CH(CH(CH₃)₂)-CONH-CH(CH₂OTroc)-CH₂OTroc(4.5mg, 7.8 μ mol)を、実施例1-8)と同様にして縮合させ、反応液よりTLCで精製し、化合物(4)の保護体を無色粉末として得た(収量2.8mg、収率70%)。

FAB-MS : m/z 1037 (M+H)

この化合物(2.8mg, 2.7 μ mol)を90%酢酸水溶液(2ml)に溶解し、氷冷下、亜鉛末(100mg)を加え、氷冷下、10分間攪拌した後、室温で1時間攪拌した。不溶物をろ去した後、ろ液を減圧濃縮して、無色粉末を得た。

FAB-MS : m/z 687 (M+H)

さらに、得られた化合物に氷冷下、トリフルオロ酢酸(TFA)(500 μ l)を加え、氷冷下、1時間放置した。反応液を減圧濃縮して表1に示した化合物(4)を無色粉末として得た(収量1.0mg)。

FAB-MS : m/z 487 (M+H)

実施例5 化合物(5)の合成

化合物(1d)(4.0mg, 8.00 μ mol)、O-Bocグリセリン酸

WO 99/12890

PCT/JP98/04093

18

(3.0 mg, 12.0 μ mol), DMAP (0.49 mg, 4.00 μ mol) を CH_2Cl_2 (300 μ l) に溶解し、氷冷下、DCC (2.5 mg, 12.0 μ mol) を加えて10分間、さらに室温で14時間攪拌した。濾過後、減圧濃縮し、TLC (クロロホルム-メタノール200:1) で精製した。得られた化合物にTFA (500 μ l) を加え、室温で2時間攪拌後、減圧濃縮し、表1に示した化合物(5)の無色油状物を得た(1.4 mg)。

FAB-MS: m/z 388 (M+H)

実施例6

10 実施例2で得られたスフィンゴシン保護体(1d)とバリンとの縮合物(4.4 mg, 7.35 μ mol)に氷冷下、TFA (500 μ l)を加え、室温で3時間攪拌した。反応液を減圧濃縮し、表1に示した化合物(6)の無色油状物を得た(2.3 mg)。

FAB-MS: m/z 399 (M+H)

15

実施例7 化合物(7)の合成

化合物(III)のカルボキシル基を LiAlH_4 で還元して1級OHとした後、N-Boc化した。さらに、1級OHをt-ブチルジメチルシリル化(TBDMS化)した後、2級OHのO-Boc化、1級OHの脱TBDMS化により
20 $\text{H}_3\text{C}-(\text{CH}_2)_{12}-\text{CH}(\text{OBoc})-\text{CH}_2-\text{CH}(\text{OBoc})-\text{CH}(\text{NHBoc})-\text{CH}_2-\text{CH}_2\text{OH}$ を得た。この化合物(3.5 mg, 5.5 μ mol)とFmoc-Ile-OH (2.5 mg, 7.1 μ mol)を出発原料として用い、実施例2と同様に縮合した後、脱Fmoc、脱Boc化することにより表1に示した化合物(7)の無色油状物を得た(1.7 mg)。

25 FAB-MS: m/z 445 (M+H)

実施例8 化合物(8)の合成

Boc-Ser(Bzl)-ol (300 mg, 1.07 mmol)をDMF (2 ml)に溶解し、氷冷下、NaH (50%油混合物、77.3 mg, 1.6

WO 99/12890

PCT/JP98/04093

19

1 mmol) を加え、30 分間攪拌した。これに臭化ベンジル (165 μ l、1.39 mmol) を加え、氷冷下、10 分間攪拌した後、室温で1 時間攪拌した。反応液に10%クエン酸水溶液を加え、酢酸エチルで抽出した。酢酸エチル層を飽和炭酸水素ナトリウム水溶液、飽和食塩水で順次洗浄し、硫酸マグネシウムで乾燥後、減圧濃縮してBoc-Ser-OH の dibenzyl 体を得た。これを脱Boc化した化合物にBoc-Val-OH、Boc-Ala-OHを順次縮合した。得られた化合物の脱Boc化体 (9.5 mg、16.9 μ mol) と化合物 (4) の合成1) で得られた化合物 (5.7 mg、11.1 μ mol) を縮合した後、これを常法に従って脱保護することによって表1に示した化合物 (8) の無色油状物を得た (0.5 mg)。

FAB-MS : m/z 559 (M+H)

実施例9 化合物 (9) の合成

化合物 (1) (2.0 mg、4.1 μ mol) をメタノール (200 μ l) に溶解し、氷冷下、無水酢酸 (60 μ l) を加え、室温で18 時間攪拌した。反応液を減圧濃縮し、残滓をTLC (クロロホルム-メタノール19:1で展開及び抽出) で精製し、表1に示した化合物 (9) の無色油状物を得た (1.5 mg)。

FAB-MS : m/z 531 (M+H)

WO 99/12890

PCT/JP98/04093

20

表 1

		R ¹	R ²	R ³	R ⁴	X ¹
化 物	(1)	H	H	H	H	$\begin{array}{c} \text{CH(CH}_3)_2 \text{ OH} \\ \quad \\ -\text{CH}_2\text{O}-\text{CO}-\text{CH}-\text{NH}-\text{CO}-\text{CH}-\text{CH}_2\text{OH} \end{array}$
	(2)	H	H	— (二重結合)	—	$\begin{array}{c} \text{CH(CH}_3)_2 \text{ OH} \\ \quad \\ -\text{CH}_2\text{O}-\text{CO}-\text{CH}-\text{NH}-\text{CO}-\text{CH}-\text{CH}_2\text{OH} \end{array}$
	(3)	H	H	OH	H	$\begin{array}{c} \text{CH(CH}_3)_2 \text{ OH} \\ \quad \\ -\text{CH}_2\text{O}-\text{CO}-\text{CH}-\text{NH}-\text{CO}-\text{CH}-\text{CH}_2\text{OH} \end{array}$
	(4)	H	H	— (二重結合)	—	$\begin{array}{c} \text{CH(CH}_3)_2 \text{ OH} \\ \quad \\ -\text{CO}-\text{NH}-\text{CH}-\text{CO}-\text{NH}-\text{CH}-\text{CH}_2\text{OH} \end{array}$
	(5)	H	H	— (二重結合)	—	$\begin{array}{c} \text{OH} \\ \\ -\text{CH}_2\text{O}-\text{CO}-\text{CH}-\text{CH}_2\text{OH} \end{array}$
	(6)	H	H	— (二重結合)	—	$\begin{array}{c} \text{CH(CH}_3)_2 \\ \\ -\text{CH}_2\text{O}-\text{CO}-\text{CH}-\text{NH}_2 \end{array}$
	(7)	H	H	H	OH	$\begin{array}{c} \text{CH(CH}_3)_2-\text{CH}_2\text{CH}_3 \\ \\ -\text{CH}_2-\text{CH}_2\text{O}-\text{CO}-\text{CH}-\text{NH}_2 \end{array}$
	(8)	H	H	H	H	$\begin{array}{c} \text{CH}_3 \quad \text{CH(CH}_3)_2 \text{ CH}_2\text{OH} \\ \quad \quad \\ -\text{CO}-\text{NH}-\text{CH}-\text{CO}-\text{NH}-\text{CH}-\text{CO}-\text{NH}-\text{CH}-\text{CH}_2\text{OH} \end{array}$
	(9)	-CO- CH ₃	H	H	H	$\begin{array}{c} \text{CH(CH}_3)_2 \text{ OH} \\ \quad \\ -\text{CH}_2\text{O}-\text{CO}-\text{CH}-\text{NH}-\text{CO}-\text{CH}-\text{CH}_2\text{OH} \end{array}$

試験例 生物学的性質

得られたスフィンゴシン類誘導体について抗真菌活性、免疫抑制活性を以下の方法により調べた。結果を表 2 に示した。

WO 99/12890

PCT/JP98/04093

21

抗真菌活性の測定

使用した検定菌は *Cryptococcus neoformans* T I M M 0 3 5 4 である。Y N B G 液体培地（ディフコイーストニトロゲンベース 0.67%、グルコース 1%）を用い、倍々希釈した薬剤による 30℃、2 日間培養
 5 後の最小生育阻止濃度（M I C）を求めた。また、部分的に菌の増殖を阻害する最小濃度を半阻止濃度（ $\mu\text{g}/\text{ml}$ ）として求め、併せて表 2 の括弧内に示した。

免疫抑制活性の測定

混合リンパ球反応（M L R）阻害活性を測定し、50%阻害活性を求めた。リンパ球は C 5 7 B L / 6 マウス及び B A L B / c マウスの脾臓細胞由来の T 細胞
 10 を用いた。

表 2

	抗真菌活性 M I C ($\mu\text{g}/\text{ml}$)	免疫抑制活性 I C 50 ($\mu\text{g}/\text{ml}$)
化合物 (1)	50 (25)	3.25
化合物 (2)	25 (12.5)	1.86
化合物 (5)	50 (25)	5
化合物 (6)	50 (25)	1.55
化合物 (8)	(50)	0.44

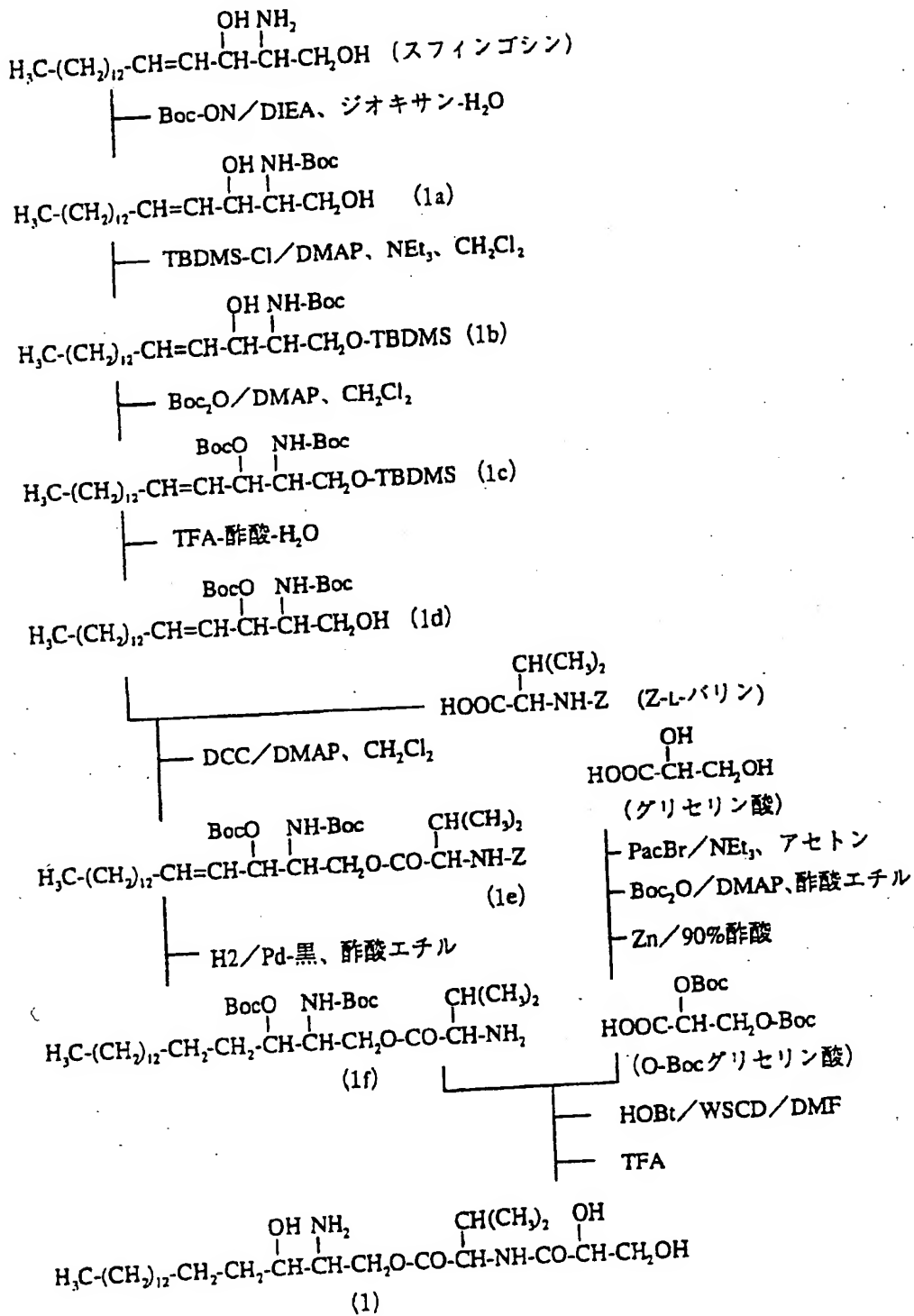
WO 99/12890

PCT/JP98/04093

22

表 3

(スキーム1)



WO 99/12890

PCT/JP98/04093

23

産業上の利用可能性

本発明のスフィンゴシン類誘導体は、上述の構成よりなるので、抗真菌活性及び免疫抑制を始めとする免疫調節作用を有しており、抗真菌剤、免疫調節剤として用いることができる。

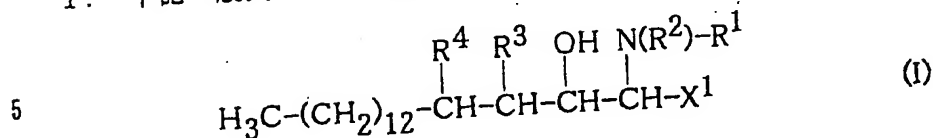
WO 99/12890

PCT/JP98/04093

24

請求の範囲

1. 下記一般式 (I) で表されることを特徴とするスフィンゴシン類誘導体。



- 式中、 R^1 、 R^2 は、同一若しくは異なって、水素、炭素数1～4のアルキル基又は炭素数2～5のアシル基を表す。 R^3 、 R^4 は、同一若しくは異なって、水素若しくはヒドロキシル基を表すか、又は、 R^3 と R^4 とが一緒になって共有結合を表す。 X^1 は、 $-(\text{CH}_2)_n-\text{CO}-\text{NH}-\text{CH}(\text{R}^5)-\text{R}^6$ 又は $-(\text{CH}_2)_m-\text{O}-\text{CO}-\text{CH}(\text{R}^7)-\text{R}^8$ を表す。 n は、0～3の整数を表す。 R^5 は、水素、ヒドロキシル基又はヒドロキシル基を有していてもよい炭素数1～4のアルキル基を表す。 R^6 は、 $-\text{CH}_2\text{OH}$ 、 $-\text{COOH}$ 、 $-\text{CONH}_2$ 又は $-\text{CO}-\text{NH}-\text{CH}(\text{R}^9)-\text{R}^{10}$ を表す。 R^9 は、水素、ヒドロキシル基又はヒドロキシル基を有していてもよい炭素数1～4のアルキル基を表す。 R^{10} は、 $-\text{CH}_2\text{OH}$ 、 $-\text{COOH}$ 、 $-\text{CONH}_2$ 又は $-\text{CO}-\text{NH}-\text{CH}(\text{R}^{11})-\text{R}^{12}$ を表す。 R^{11} は、水素、ヒドロキシル基又はヒドロキシル基を有していてもよい炭素数1～4のアルキル基を表す。 R^{12} は、 $-\text{CH}_2\text{OH}$ 、 $-\text{COOH}$ 又は $-\text{CONH}_2$ を表す。 m は、1～3の整数を表す。 R^7 は、水素、ヒドロキシル基又はヒドロキシル基を有していてもよい炭素数1～4のアルキル基を表す。 R^8 は、 $-\text{CH}_2\text{OH}$ 、 $-\text{NH}_2$ 又は $-\text{NH}-\text{CO}-\text{CH}(\text{R}^{13})-\text{R}^{14}$ を表す。 R^{13} は、水素、ヒドロキシル基又はヒドロキシル基を有していてもよい炭素数1～4のアルキル基を表す。 R^{14} は、 $-\text{CH}_2\text{OH}$ 、 $-\text{NH}_2$ 又は $-\text{NH}-\text{CO}-\text{CH}(\text{R}^{15})-\text{R}^{16}$ を表す。 R^{15} は、水素、ヒドロキシル基又はヒドロキシル基を有していてもよい炭素数1～4のアルキル基を表す。 R^{16} は、 $-\text{NH}_2$ 又は $-\text{CH}_2\text{OH}$ を表す。

但し、 R^1 、 R^2 、 R^3 が同時に水素であり、 R^4 がヒドロキシル基であり、 X^1 が $-\text{CH}_2-\text{CO}-\text{NH}-\text{CH}(\text{R}^5)-\text{R}^6$ であり、 R^5 が $-\text{CH}(\text{CH}_3)_2$ 又は $-\text{CH}(\text{CH}_3)\text{C}_2\text{H}_5$ であり、 R^6 が $-\text{CO}-\text{NH}-\text{CH}(\text{R}^9)-\text{R}^{10}$

WO 99/12890

PCT/JP98/04093

25

であり、 R^9 、 R^{10} が同時に CH_2OH である場合を除く。

2. 請求の範囲第1項記載のスフィンゴシン類誘導体又はその薬理学的に許容される塩を有効成分として含有することを特徴とする医薬組成物。

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/JP98/04093

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER Int.Cl ⁶ C07C219/06, 229/06, 235/12, A61K31/16, 31/22 According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC		
B. FIELDS SEARCHED Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols) Int.Cl ⁶ C07C219/06, 229/06, 235/12, A61K31/16, 31/22 Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used) CA (STN), REGISTRY (STN)		
C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
P, X	WO, 97/34012, A1 (Takara Shuzo Co., Ltd.), 18 September, 1997 (18. 09. 97), Refer to Claims ; Examples & AU, 9719396, A	1-2
A	JP, 7-258178, A (Director General, Agency of Industrial Science and Technology), 9 October, 1995 (09. 10. 95), Refer to Par. No. [0002] (Family: none)	1-2
A	JP, 2-215711, A (The Biomenbrane Institute), 28 August, 1990 (28. 08. 90), Refer to specification as a whole & EP, 381514, A1 & CA, 2007507, A & DE, 69019388, A	1-2
<input type="checkbox"/> Further documents are listed in the continuation of Box C. <input type="checkbox"/> See patent family annex.		
* Special categories of cited documents: "A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance "E" earlier document but published on or after the international filing date "L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified) "O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means "P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed "T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention "X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone "Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art "&" document member of the same patent family		
Date of the actual completion of the international search 11 December, 1998 (11. 12. 98)		Date of mailing of the international search report 22 December, 1998 (22. 12. 98)
Name and mailing address of the ISA/ Japanese Patent Office		Authorized officer
Facsimile No.		Telephone No.

国際調査報告		国際出願番号 PCT/J P 98/04093	
A. 発明の属する分野の分類 (国際特許分類 (IPC))			
Int. Cl. ⁸ C07C219/06, 229/06, 235/12, A61K31/16, 31/22			
B. 調査を行った分野			
調査を行った最小限資料 (国際特許分類 (IPC))			
Int. Cl. ⁸ C07C219/06, 229/06, 235/12, A61K31/16, 31/22			
最小限資料以外の資料で調査を行った分野に含まれるもの			
国際調査で使用了電子データベース (データベースの名称、調査に使用した用語)			
CA (STN), REGISTRY (STN)			
C. 関連すると認められる文献			
引用文献の カテゴリー*	引用文献名 及び一部の箇所が関連するときは、その関連する箇所の表示	関連する 請求の範囲の番号	
P, X	WO, 97/34012, A1 (寶酒造株式会社), 18. 9月. 1997 (18. 09. 97), 特許請求の範囲及び実施例参照, & AU, 9719396, A	1-2	
A	JP, 7-258178, A (工業技術院長), 9. 10月. 1995 (09. 10. 95), 段落 [0002] 参照, (ファミリーなし)	1-2	
A	JP, 2-215711, A (サバ・イノベーション・インスティテュート), 28. 8月. 1990 (28. 08. 90), 明細書全体参照, & EP, 381514, A1 & CA, 2007507, A & DE, 69019388, A	1-2	
<input type="checkbox"/> C欄の続きにも文献が列挙されている。 <input type="checkbox"/> パテントファミリーに関する別紙を参照。			
* 引用文献のカテゴリー 「A」 特に関連のある文献ではなく、一般的技術水準を示すもの 「E」 国際出願日前の出願または特許であるが、国際出願日以後に公表されたもの 「L」 優先権主張に疑義を提起する文献又は他の文献の発行日若しくは他の特別な理由を確立するために引用する文献 (理由を付す) 「O」 口頭による開示、使用、展示等に関する文献 「P」 国際出願日前で、かつ優先権の主張の基礎となる出願日の後に公表された文献 「T」 国際出願日又は優先日後に公表された文献であって出願と矛盾するものではなく、発明の原理又は理論の理解のために引用するもの 「X」 特に関連のある文献であって、当該文献のみで発明の新規性又は進歩性がないと考えられるもの 「Y」 特に関連のある文献であって、当該文献と他の1以上の文献との、当業者にとって自明である組合せによって進歩性がないと考えられるもの 「&」 同一パテントファミリー文献			
国際調査を完了した日 11. 12. 98		国際調査報告の発送日 22. 12. 98	
国際調査機関の名称及びあて先 日本国特許庁 (ISA/J P) 郵便番号 100-8915 東京都千代田区霞が関三丁目4番3号		特許庁審査官 (権限のある職員) 坂崎 恵美子 電話番号 03-3581-1101 内線 3445	

THIS PAGE BLANK (USPTO)

